

Aus der Universitäts-Frauenklinik
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

**Untersuchungen zum Stoffwechsel von Testosteron
in der menschlichen Niere**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Heinz-Josef Weis
aus Üdersdorf/Eifel

Mainz 1975

Aus der Universitäts-Frauenklinik der Johannes-
Gutenberg-Universität Mainz

Untersuchungen zum Stoffwechsel von Testosteron in
der menschlichen Niere

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin der
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz, den
Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Heinz-Josef Weis
aus Üdersdorf/Eifel

Mainz 1975

Fachbereichsdekan: Professor Dr. Langendorf

Referent : Professor Dr. P. Knapstein

Korreferent : Professor Dr. G.W. Oertel



MEINEN ELTERN

UND MEINER FRAU ANETTE

GEWIDMET



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554413_0112

Untersuchungen zum Stoffwechsel von Testosteron in der menschlichen Niere

A) Einleitung

Der Metabolismus von Steroiden in der Niere ist bisher noch wenig untersucht worden. Inkubationsversuche imitieren nur schlecht die in-vivo Verhältnisse. Aus diesem Grunde versuchte man, in-vivo Perfusionen der Niere durchzuführen. Beim Menschen schlugen jedoch alle Vorhaben aus technischen Gründen fehl: wegen der starken Nierendurchblutung war nur eine 1-2minütige Perfusionsdauer möglich (P. KNAPSTEIN, Universitätsfrauenklinik Mainz und F. ORESTANO, Urologische Universitätsklinik Mainz, persönliche Mitteilung). Von einer erfolgreichen in-vivo Perfusion einer menschlichen Niere über 10 Minuten berichteten lediglich HOFFMANN et al. (1974).

Deshalb versuchte man Langzeitperfusionen im standardisierten System in vitro durchzuführen. In dem zur Verfügung stehenden Perfusator (GAMBRO) ließen sich am ehesten den in vivo herrschenden Verhältnissen angepaßte Bedingungen simulieren, so daß aus den gewonnenen Ergebnissen gewisse Rückschlüsse auf den physiologischen Metabolismus möglich erscheinen.

B) Literaturübersicht

I. Metabolismus von Testosteron, allgemein

Testosteron ist das wichtigste und am stärksten wirksame Androgen. Es wird im Hoden, in der Nebennierenrinde und im Ovar gebildet. Der Hoden produziert mengenmäßig den größten Anteil. Die Nebennierenrinde ist beim Mann mit ungefähr 10% an der gesamten Syntheserate beteiligt. Die Unterschiede beruhen auf den verschiedenen hohen Aktivitäten der Syntheseeenzyme in den drei Organen. Das Ausgangssubstrat für die Biosynthese ist Acetat, wie aus Untersuchungen von SAVARD et al. (1952), WOTIZ (1960) und von KNAPSTEIN et al. (1968) hervorgeht. Nach den Ergebnissen von MENON (1965) verläuft der Aufbau über Cholesterin. Für die weitere Synthese können verschiedene Wege eingeschlagen werden: Sie kann z.B. über Pregnenolon- 17α -Hydroxypregnenolon - DHEA - Androstendiol (sog. Δ^5 Weg) zu Testosteron verlaufen. Pregnenolon kann aber auch zu Progesteron hydroxyliert, dieses zu 17α -Hydroxyprogesteron umgewandelt werden, welches über Androstendion in Testosteron übergeht (sog. Δ^4 -Weg). Das Androstendion nimmt eine Schlüsselstellung in der Synthese ein, denn es kann außerdem noch aus DHEA und Testosteron entstehen und zu Östron, Epitestosteron, 6α -OH- und 16α -OH-Androstendion umgesetzt werden. Testosteron kann weiter metabolisiert werden zu Östradiol, 6β -OH- Testo-

steron, 16_α-OH-Testosteron und Testosteron-17-sulfat.

Da auf den verschiedenen Synthesestufen Übergänge von der einen in die andere Reihe möglich sind, gibt es eine Fülle von Umwandlungsmöglichkeiten. Außerdem entstehen noch viele Hydroxylierungsprodukte, die nicht unmittelbar in die Synthesekette des Testosterons eingeschaltet sind und der Eliminierung des Hormons dienen (Übersicht bei TAMM, 1967).

Nach den neueren Untersuchungen von WILSON (1972) und BAULIEU (1972) ist Testosteron nicht die eigentliche Wirkform, sondern das im Plasma zirkulierende Prä-Androgen. Es konnte nachgewiesen werden, daß es in verschiedenen Zielorganen intrazellulär in 5_α-DHT umgewandelt wird und als solches erst den Nucleus, den eigentlichen Ort der Wirksamkeit, erreicht. Dies gilt jedoch nicht für alle Organe, wie BULLOCK et al. (1974) am Beispiel der Mäuseniere zeigten.

Hoden, Nebennierenrinde und Ovar können verschiedene Metabolite mit Schwefelsäure verestern. So entstehen DHBA-Sulfat und Testosteron-17-Sulfat. In den Testikeln liegen die Produktionsraten unter 1% (KNAPSTEIN et al. 1967)

Die Regulation der Testosteronsekretion erfolgt durch einen negativen Rückkopplungsmechanismus in dem Regelkreis: Hypothalamus - Hypophyse - Hoden. Das ICSH = LH bewirkt eine Stimulierung der Produktionsrate. Das Gonadotropin wirkt über Zyclo-3'-5'-Adenosinmonophosphat

auf die Syntheseschritte: Cholesterin - 20,22-Dihydroxycholesterin - Pregnenolon beschleunigend ein (HALL et al., 1964). Außerdem ist ein Effekt auf spätere Stufen über eine Substratinduktion wahrscheinlich (SCHOEN, 1965). Auf die Nebennierenrinde hat das ACTH ebenfalls über cAMP einen steigernden Einfluß. Dieses Regulationssystem von Hypophyse und Nebennierenrinde reagiert schneller als das erste.

Im Alter nimmt die Sekretionsmenge ab, weil die Aktivität von organspezifischen Enzymen sich verringert. So wurde in der Vena testicularis bei einem 30-jährigen Mann eine Testosteronkonzentration von 160 ug% und bei einem 80-jährigen von ungefähr 10 ug% gemessen (HOLLANDER et al., 1958).

Nach längerer Zufuhr von Östrogenen wird ebenfalls die Menge des Testosterons verringert und zwar sowohl über eine Enzymhemmung als auch infolge der Hemmung der ICSH-Ausschüttung. Eine "innere Regulation" der Hormonbildung ist wahrscheinlich, wobei verschiedene Metabolite der Synthesereihe im Sinne einer Rückkopplungshemmung auf die Anfangsprodukte (z.B. Cholesterin) einwirken würden. Im Ovar werden die Androgene im Stromagewebe gebildet (RICE, 1964). Eine Stimulierung der Testosteronsynthese durch HCG oder menschliches Gonadotropin ist bis zum 8-9fachen möglich (RICE et al., 1964). Der Einfluß des Gonadotropins zeigt sich besonders deutlich bei der Frau, wo sich je nach Zyklusphase verschiedene Testosteron- bzw.

Androstendionmengen im Plasma und Urin ergeben. Während der Follikelphase überwiegt das Androstendion und in der frühen Lutealphase kann mehr Testosteron nachgewiesen werden (KUMARI et al., 1966). Mittlere Werte im Blut der Vena ovarica sind 0,822 ug% für Androstendion und 0,074 ug% für Testosteron (HORTON et al., 1966). Das Epitesteron, das 17 -Hydroxyisomer des Testosterons, ist biologisch inaktiv und entsteht im sog. Cortex des Ovars. Seine Menge verändert sich im gleichen Sinne wie diejenige des Androstendions.

Die Nebennierenrinde spielt für die Bildung des Testosterons eine untergeordnete Rolle, da hier das Gleichgewicht, ähnlich wie im Ovar, zum Androstendion hin verschoben ist. Bei Männern wurden im Nebennieren-Venenblut Androstendion-Konzentrationen von 23 ug% und Testosteron-Konzentrationen von 2 ug% gemessen (WIELAND et al., 1965). Bei Frauen konnte kein Testosteron nachgewiesen werden. Der Wert für Androstendion betrug 7 ug%. (WIELAND et al. 1965) Bei gesunden Personen finden sich im peripheren Plasma folgende Konzentrationen in ug% (nach TAMM, 1967):

	Testosteron	Androstendion	Testo/Androst.
Männer	0,67	0,077	8,7/1
Frauen	0,065	0,160	1/2,5

Bei Männern ist also der Testosteronspiegel 10 mal höher als bei Frauen, während die Androstendion-Konzentration um den Faktor 2 niedriger ist.

Die Relationen von Testosteron und Androstendion sind vor der Pubertät etwa gleich (Knaben: 1/2, Mädchen: 1/1,6), wie aus der unteren Tabelle hervorgeht. Nach der Pubertät steigt bei Männern der Wert für Testosteron um den Faktor 16, wogegen er für Androstendion gleichbleibt. Bei der Frau erhöht sich die Androstendion-Konzentration auf das 5,3fache und diejenige von Testosteron auf das 3,4fache (FRASIER et al. 1966), wie aus folgender Tabelle über die Verhältnisse vor der Pubertät zu ersehen ist:

	<u>Testosteron</u>	<u>Androstendion</u>	<u>Testo/Androst.</u>
Knaben	0,042	0,086	1/2
Mädchen	0,019	0,030	1/1,6

Die Werte für Testosteron und Androstendion sind beim Einzelindividuum nicht konstant. Bei Männern ändern sie sich mit der Tageszeit und sind morgens am höchsten (RESKO et al. 1966).

Die Produktionsrate des Testosterons setzt sich zusammen aus der Sekretionsrate und einem Anteil, der peripher aus Androstendion bzw. DHEA entsteht. Für die Ermittlung der Urin-Produktionsrate muß berücksichtigt werden, daß die Urinmetaboliten des Testosterons, wie z.B. Androsteron, genau so gut von den beiden obigen Substanzen stammen können. Nach HORTON et al. (1965) kommt man zu folgenden Werten (mg/die):

	<u>Testosteron-UTPR</u> <u>(Urin-Prod.Rate)</u>	<u>Testost.-PTPR</u> <u>(Plasma-Prod.Rate)</u>	<u>Androstendion</u> <u>(Pl-Prod.Rate)</u>
Männer	6,7	6,3	1,86
Frauen	1,51	0,48	3,17

Es fällt auf, daß bei der Frau die Androstendion-Produktionsrate (APR) höher ist, als beim Mann. Im männlichen Organismus ergeben sich für die Urin-TPR und die Plasma-TPR gleiche Werte, während bei der Frau die Plasma-TPR um 1 mg/die niedriger ist. Eine Stimulierung der TPR ist bei Männern durch HCG-Gabe in viel größerem Umfang möglich als bei der Frau (RIVAROLA et al 1966). Eine Steigerung durch ACTH ist jedoch nur im weiblichen Organismus möglich (RIVAROLA et al., 1966). Lediglich die Androstendion-PR kann bei beiden durch ACTH gesteigert werden.

Die Metabolisierung des Testosterons im Plasma vollzieht sich relativ rasch. In den ersten 10 Minuten ergibt sich eine Halbwertszeit von 8,5 Minuten und für Testosteronsulfat eine solche von mehr als 50 Minuten (KNAPSTEIN et al., 1972). Nach i.v. Zufuhr von Testosteron erscheint schon nach 10 Minuten Testosteron-Glucuronid im Plasma (DILLARD et al., 1969). Nach BURGER (1964) beträgt der Normalwert beim Mann 1,31 $\mu\text{g}\%$ und bei der Frau 0,05 $\mu\text{g}\%$. Im weiblichen Organismus stammen 60% des Testosterons aus Androstendion. Beim Mann sind es dagegen nur 3% (TAMM, 1967). Hier sind 36% des Plasma-Androstendions aus Testosteron entstanden (HORTON et al., 1966).

Die Umwandlung erfolgt in verschiedenen peripheren Organen. Im Blut selbst scheint kein Metabolismus stattzufinden.

DHEA, Androsteron, Ätiocholanolon und Epiandrosteron liegen im Plasma fast nur als Sulfate vor. Die ersten beiden

Metabolite kommen bei Frauen in etwas geringeren Mengen vor als bei Männern. Die Konzentrationen unterliegen Tages-schwankungen. Androsteron und Ätiocholanolon kommen nur als Glucuronide in Größenordnungen von 1,6 - 1,9 ug% im Plasma vor. Demgegenüber steht ein Wert für die entsprechenden Sulfatester von 11,8 - 60 ug% bzw. 41 ug%. (SJOVALL et al., 1965). Die Unterschiede ergeben sich aus der verschieden schnellen Ausscheidung durch die Niere. Die Leber nimmt eine zentrale Stellung im oben beschriebenen Stoffwechsel der Androgene ein, aber auch andere Organsysteme sind beteiligt (TAMM, 1967 und KNAPSTEIN, 1972).

Abbau: Nach Injektion von radioaktiv markiertem Testosteron läßt sich feststellen, daß der überwiegende Teil der Aktivität nach 24 - 48 Stunden im Urin wiederzufinden ist (70-99%). Nach Gabe von ^{14}C -Testosteron erschienen 5% in den Faeces und 12-14% in der Galle, so daß für einen Teil des Testosterons oder seine Metabolite ein entero-hepatischer Kreislauf angenommen werden muß (SANDBERG, 1956). Im Urin wurden folgende Abbauprodukte des Testosterons isoliert: Androsteron, Ätiocholanolon (vorwiegend als Glucuronide) und Epandrosteron fast nur als Sulfat (BAULIEU et al., 1960). Der Abbau des Testosterons und des Androstendions verläuft über dihydrierte Zwischenstufen entweder zu 5α - und 5β -Androstandiol oder zu den 17-Ketosteroiden Androsteron und Ätiocholanolon. Auf jeder Abbaustufe bestehen Übergangsmöglichkeiten zwischen den verschiedenen Steroiden.

In der fetalen Leber entstehen als Endprodukte des Abbaus lediglich 5 β -Androstandiol und Ätiocholanolon.

DHEA erreicht vorwiegend als Sulfat die Leber und kann in Androstendiol, Androstendion oder Testosteron umgewandelt werden. So kann Testosteron sowohl Abbauprodukt von DHEA als auch von Androstendion sein. Ein Austausch mit dem ins Plasma sezernierten Testosteron findet jedoch nicht statt. Quantitativ entfallen nach Testosteroninfusion 25 - 45% auf die 17-Ketosteroide Androsteron und Ätiocholanolon und 5% werden als 5 α - bzw. 5 β -Androstandiol ausgeschieden. (PAULIEU et al., 1964)

Der männliche Organismus bildet mehr Androstandiole im Vergleich zur Frau. Die Umwandlungsrate von Testosteron in seine glucuronierte Form beträgt 1% (PAULIEU et al., 1964), während nur 0,1% in Sulfat-Ester übergehen (CAMACHO et al., 1964). Die Androstandiole sind nicht nur Ausscheidungsprodukte von Androgenen, sondern stellen auch wichtige Zwischenprodukte für die Bildung der 17-Ketosteroide Androsteron und Ätiocholanolon dar, denn 50% von letzterem stammen von 5 β -Androstandiol und 20% des Androsterons vom 5 α -Androstandiol. (VERMEULEN et al., 1966)

Auch Testosteron-Glucuronid ist nicht als Endstufe zu betrachten. Nur wenig wird nach i.v.-Gabe unverändert ausgeschieden, ein weiterer Teil über 5 β -Androstandiol-17-glucuronid in Ätiocholanolon verwandelt. So entstehen 25% des 5 β -Androstandiols, das im Urin ausgeschieden wird. Auch DHEA-Sulfat und -Glucuronid können weiter metaboli-

siert werden, während Androsteron-Glucuronid und Testosteron-Sulfat Endprodukte darstellen.

Das Epitestosteron wird in einer Menge von 220 ug/die (=3% des Testosterons) sezerniert. Die Ausscheidung erfolgt als Glucuronid, Sulfat, oder 5~~α~~- bzw. 5β-Androstan-diol.(WILSON et al., 1966)

Die Umwandlungsrate von Testosteron in Östrogene beträgt nach BREUER (1962) 0,03 - 0,05%. Der Übergang erfolgt in der Leber bzw. in den Gonaden. Nach 5 Minuten tauchen die ersten konjugierten Metabolite im Blut auf. Bei Schwangeren hat die Placenta eine Aromatisierungsrate von 70% (nach BOLTE et al., 1964). Dies dient zum Schutz des Feten vor einer allzu großen Androgenmenge.

Die Prostata ist in bezug auf den Testosteron-Metabolismus oft untersucht worden. Hier entstehen beim Abbau des Testosterons die Androstandiole, die dihydrierten Verbindungen des Testosterons, sowie von den Ketosteroiden das Androsteron. Außerdem konnte wie in der Leber das 6β-Hydroxyandrostendion nachgewiesen werden.

Die Reduktion von Testosteron zu Androstendion scheint im gesamten Organismus möglich zu sein. Die Haut ist außerdem in der Lage, Androsteron, Dihydroandrostendion und Ätiocholanolon aus Testosteron zu bilden und DHEA in Testosteron umzusetzen.

II. Metabolismus von Testosteron in der Niere

Während die Rolle der Leber im Testosteron-Stoffwechsel weitgehend abgeklärt wurde, sind die Aufgaben und möglichen Reaktionen in der Niere bezüglich dieses Hormons noch nicht abschließend erforscht. Die Umwandlung der Steroide und ihre Konjugation durch dieses Organ wurden bisher untersucht durch in-vitro Inkubationen von Nierenschnitten oder -homogenaten mit markierten Hormonen oder in-vivo durch i.v. Infusionen radioaktiv gekennzeichnete Steroide.

Über Konjugationsreaktionen in der Niere geht aus der Literatur folgendes hervor: Bereits 1960 konnten COHN & HUME in einem in-vivo Versuch zeigen, daß die Hundeniere imstande ist, Androsteron und Ätiocholanolon zu konjugieren. Einen weiteren Beweis für die Fähigkeit des Organes zur Steroidkonjugation lieferten MOSER et al., 1966, indem sie nachwiesen, daß radioaktiv markiertes ^{35}S -Sulfat in-vivo von der menschlichen Niere in Cholesterol- ^{35}S -Sulfat überführt werden kann. Die gleiche Reaktion in der Ratten- niere und -leber konnten RICE et al. (1968) zeigen: ^{35}S -markiertes Sulfat wurde unter in-vitro Bedingungen mit Nieren- und Leber-Homogenaten inkubiert. Die Radioaktivität wurde anschließend als Cholesterol- ^{35}S -Sulfat wiedergefunden. Als zusätzlich nicht-markiertes Cholesterol mit inkubiert wurde, konnte mehr ^{35}S -Sulfat in der Lipidfraktion festgestellt werden. Nach Hinzufügen von ^3H -markiertem

Cholesterol zu den Homogenaten entstand ^3H -Cholesterol-Sulfat. Nach parenteraler Gabe von ^{35}S -Sulfat und Cholesterol- ^{35}S -Sulfat tauchte die Aktivität ebenfalls überwiegend in den Lipidfraktionen von Leber und Niere auf. Die Konjugation von exogenem und endogenem Cholesterol zum entsprechenden Sulfat, die hier nachgewiesen wurde, bewies das Vorhandensein von Cholesterol-sulfo-transferase in Leber und Niere der Ratte.

Die Fähigkeit der Niere, C_{19} -Steroide zu konjugieren, wurde von DILLARD et al. (1969) in einem in-vitro Versuch dargestellt: In einem Ringer-Bicarbonat-Puffer wurde radioaktiv markiertes Androsteron mit Nierenschnitten vom Meerschweinchen inkubiert. Der Versuch wurde sowohl in einem O_2 - CO_2 -Gemisch als auch in einer anaeroben Atmosphäre von N_2 und CO_2 ausgeführt. Bei der Analyse wurden die polaren von den nicht-polaren Metaboliten im System Chloroform/Wasser getrennt. In der letzten Gruppe fanden sich Androsteron und andere nicht identifizierte Steroide. Die polare Fraktion enthielt eine Anzahl von Konjugaten, unter denen Androsteron-Glucuronid und Androsteron-Sulfat in ungefähr gleichen Mengen nachgewiesen werden konnten. Bei den anaeroben Inkubaten konnten jedoch keinerlei Glucuronide isoliert werden, während die Veresterung mit Sulfat auch hier möglich war.

ZUCKERMAN et al. (1969) zeigten, daß in der Rattenniere unter in-vivo Bedingungen auch die Rückreaktion der Konjugation, die Hydrolyse, möglich ist am Beispiel von

Östronsulfat. Deshalb wurden die Fähigkeiten vieler Rattenorgane zur Hydrolyse dieses Hormonkonjugates verglichen, nachdem vorher radioaktiv markiertes Östronsulfat sowie andere Steroid-Sulfate unter in-vivo Bedingungen i.v. injiziert worden waren. Dabei stellte sich heraus, daß die Aktivität des Hydrolyseenzym für das oben erwähnte Steroid in der Niere am höchsten ist.

Die Reaktion findet offenbar in den Mikrosomen statt, da hier die größte Radioaktivität entdeckt wurde. Der Sinn der hohen Hydrolyserate der Niere ist möglicherweise darin zu suchen, daß diese Reaktion einen Übergang des Östrogen-Sulfates in das entsprechende Glucuronid und damit eine bessere Ausscheidung ermöglicht. In der pH-Abhängigkeit, der Temperaturstabilität, der Substratspezifität und den kinetischen Eigenschaften unterscheidet sich das Enzym von früher beschriebenen Nieren-Sulfatasen.

Den Einfluß einer abgewandelten Molekülstruktur auf die Glucuronidierungsraten von Steroiden untersuchten BERLINER et al. (1962) in vitro. Sie wollten feststellen, ob das Vorhandensein einer 17α -Hydroxygruppe bei an Ring A reduzierten und Δ^4 -3-Keto-Steroiden die Glucuronidierungsrate verändert. Zu diesem Zweck wurden Nieren und Lebern aus männlichen CBA-Mäusen in vitro mit Cortisol- 4 - ^{14}C , Corticosteron- $1,2$ - ^3H , Pregnan- 3α -ol- $11,20$ -dion- 4 - ^{14}C (=X) und Pregnan- $3\alpha,17\alpha$ -diol- $11,20$ -dion- 4 - ^{14}C (=Y) inkubiert. Es fiel auf, daß die Leber Corticosteron und X, die keine

17 α -Hydroxygruppen tragen, in größerem Ausmaß glucuronidieren kann als Cortison und Y, bei denen keine 17 α -OH-Gruppe vorhanden ist. Für diese Unterschiede machen die Autoren eine sterische Behinderung der Glucuronyl-Transferase durch die oben genannte Gruppe verantwortlich. In der Niere wurden kaum Cortisol oder Corticosteron konjugiert, aber auch hier konnten 30% mehr X als Y mit Glucuronsäure verestert werden. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß die 17 α -OH-Gruppe als Bestandteil eines Steroidmoleküls dessen Konjugierung mit Glucuronsäure vermindert.

Auch für die Konjugation phenolischer Steroide spielt die Niere eine wichtige Rolle. KIRDANI et al. (1972) haben versucht, die Rolle der Niere bei der Glucuronidierung von Östriol zu beleuchten. Zum Nachweis verwenden sie 3 Systeme: Im ersten wird in vivo mit menschlichen Nieren gearbeitet, wobei jeweils Einzelinjektionen oder 40minütige Dauerinfusionen vorgenommen werden. Das markierte Steroid wird entweder in die Nierenarterie oder eine periphere Vene appliziert. In-vitro Versuche mit homogenisiertem menschlichen Nierengewebe sowie Perfusionen von Pavian-Nieren sollen die Ergebnisse erhärten.

Bei den in-vivo Experimenten konnte nachgewiesen werden, daß die menschliche Niere in der Lage ist, das Östriol in Position 16 zu glucuronidieren. Auch beim Homogenat, das mit Östriol und UDPGA inkubiert wurde, konnte eine

Glucuronidierung des Steroids gezeigt werden. Die Pavian-Niere war ebenfalls imstande, ein solches Konjugat herzustellen. Mit Hilfe der Ergebnisse dieser Arbeit konnte der Metabolismus des Hormons weiter erhellt werden.

Wenn Östriol in das Blut injiziert wird, so erfolgt die Verarbeitung zunächst in der Leber im Sinne einer 16-Glucuronidierung. Ein Teil wird zusätzlich in Position 3 mit Sulfat verestert und in der Galle ausgeschieden.

Der größte Teil des 16-Glucuronides gelangt über das Blut in die Niere und von dort in den Urin. Von der Leber nicht metabolisiertes Östriol wird in der Niere 16-glucuronidiert und ausgeschieden. Das Östriol-3-sulfo-16-glucuronid gelangt zusammen mit einem Teil des 16-Glucuronides in den Dünndarm, wo völlige Hydrolyse und eine anschließende 3- oder 16-Glucuronidierung erfolgt. Über die Vena portae gelangen diese Konjugate zusammen mit freiem Östriol zurück in die Leber. Ein gewisser Teil wird im Urin ausgeschieden, während ein anderer wieder in Position 16 verestert und erneut in den enterohepatischen Kreislauf geschleust wird.

Ein Beweis für die Spezifität der 16-Glucuronidierung des Östriols ist die Tatsache, daß von der Pavian-Niere kaum Aldosteron glucuronidiert werden konnte und auch das Homogenat der menschlichen Niere nicht in der Lage war, Östron im gleichen Sinne wie Östriol zu verarbeiten. Darüberhinaus konnte bei der menschlichen Nierenperfusion das Östron nicht ausgeschieden werden. Die Metabolisierung

von Östron muß in einem anderen Organ erfolgen. Darauf weist auch der Umstand hin, daß (anders wie bei Östriol) die Ausscheidung bei Injektion in die Nierenarterie langsamer erfolgt als bei Applikation in eine periphere Vene.

17 β -Östradiol-3-Glucuronid und 17 β -Östradiol-17-Glucuronid konnten von HOBKIRK et al. (1971) als Metaboliten von 17 β -Östradiol im menschlichen Organismus nachgewiesen werden. Da über die Bildungsorte keine endgültige Klarheit herrschte, wurde in einem in-vitro Versuch von HOBKIRK et al. (1974) mit menschlichen Nieren der Übergang von 17 β -Östradiol-6,7-³H in das entsprechende 17-Glucuronid untersucht.

Die Verfasser inkubierten 17 β -Östradiol-6,7-³H, 17 β -Östradiol-6,7-³H-Sulfat und Östriol-6,7-³H mit Homogenaten menschlicher Nieren in Anwesenheit von Uridin-Diphosphoglucuronsäure (UDPGA). Bei der Glucuronidierung wurde die Position C₁₇ vor dem Kohlenstoffatom 3 begünstigt, so daß 17 β -Östradiol-6,7-³H hauptsächlich in 17 β -Östradiol-17-Glucuronid umgewandelt wurde. Im Vergleich zu den in-vivo Versuchen von HOBKIRK et al. (1971) waren die Umwandlungsraten gering, so daß vermutet werden kann, daß hierbei der größte Teil der Synthese in extrarenalen Geweben erfolgte. Als ein möglicher Bildungsort kommt die Magenmukosa in Frage, wo 17-Glucuronyl-Transferase-Aktivität nachgewiesen ist (HOFFMANN et al., 1968). Die Ausbeute aus den 3 Metaboliten war nach Inkubation

mit 17 β -Östradiol-6,7-³H-Sulfat geringer. Wahrscheinlich verläuft die Glucuronidierung dieses Stoffes über 17 β -Östradiol-6,7-³H. Die bemerkenswert hohe Umwandlungsrate von Östriol-6,7-³H in das entsprechende 16-Glucuronid (52 - 91%) bestätigt die Ergebnisse von KIRDANI et al. (1972).

Bei einem Experiment wurden Mark und Rinde getrennt mit 17 β -Östradiol-6,7-³H inkubiert. Es ergab sich, daß in der Rinde ungefähr 20mal mehr Glucuronidkonjugate synthetisiert wurden.

Die direkte Umwandlung von 17 β -Östradiol-3-Glucuronid und Östron-3-Glucuronid ineinander ohne vorherige Spaltung der Esterbindung wurde in vivo von HOBKIRK & NILSEN (1970) und in vitro von ROY et al. (1969) nachgewiesen. Auch der direkte Übergang von 17 β -Östradiol-3-Sulfat in Östron-3-Sulfat konnte am menschlichen Fetus gezeigt werden (EMERMAN et al., 1965). Daß solche direkten Reaktionen auch in der Niere möglich sind, bewiesen HOBKIRK et al. (1974b):

Radioaktiv markiertes 17 β -Östradiol-3-Glucuronid und 17 β -Östradiol-3-Sulfat wurden mit Homogenat menschlicher Nieren inkubiert. Eine direkte Metabolisierung der Stoffe zu Östron-3-Glucuronid bzw. Östron-3-Sulfat konnte nachgewiesen werden. Außerdem fand auch ein direkter Übergang von 17 β -Östradiol in Östron statt. Ein Rückschluß, ob diese Reaktionen von einem einzigen Enzym katalysiert werden, ist nach den Ergebnissen der Arbeit nicht möglich.

Nach Zugabe von NAD nahmen die Reaktionen stärker zu als bei NADP. Die Übergänge in umgekehrter Richtung fanden kaum in messbarem Ausmaß statt, selbst wenn NADH oder NADPH zugefügt wurden, weil die Coenzyme vermutlich zu schnell oxidiert wurden. Die Hydrolyseraten veränderten sich bei Konjugaten und freiem 17 β -Östradiol im Verlauf des Versuches im gleichen Sinne.

Bei einem Experiment wurden Mark und Rinde getrennt inkubiert. Es stellte sich heraus, daß unter Zufuhr von exogenem NAD eine besonders hohe Dehydrogenase-Aktivität im Mark nachzuweisen war. Es fand sich in den Homogenaten eine hohe Sulfatase-Aktivität, während die β -Glucuronidase-Aktivität gering war.

Die gleichen Homogenate brachten keinerlei Hydrolyse bei Inkubation mit Testosteron-17-Sulfat und kaum Umwandlung bei Dehydroisoandrosteron-3-Sulfat.

Über den Metabolismus von Steroiden geht aus der Literatur folgendes hervor: Die initialen Metabolite von Testosteron in der Rattenleber und -niere untersuchten MOSEBACH et al. (1966) in vivo: 3 etwa 30 Tage alten männlichen Sprague-Dawley Ratten wurden 20 oder 50 μ C 4-¹⁴C-Testosteron intraperitoneal injiziert. Daraufhin wurden die initialen Zellmetabolite in den Zellfraktionen von Leber und Niere, die sich in 10 Minuten entwickelt hatten, untersucht. Es konnte festgestellt werden, daß qualitativ eine große Ähnlichkeit zwischen den Metabolitspektren der Zellfraktionen eines bestimmten Organs

besteht. Als einzige Ausnahme tauchte das 5α -(β)Androstendion(3,17) spezifisch in Mitochondrien und Kernen auf. Quantitativ bestanden zwischen den einzelnen Fraktionen jedoch oft erhebliche Unterschiede. In der Leber überwogen die Metabolite, die polarer als Testosteron waren, gegenüber den unpolareren. Besonders in der Cytoplasmafraktion waren die polaren angereichert. Auch 3α -OH- 5β -Androstanon-17 und Androsteron konnten nachgewiesen werden aber kaum Testosteron und Δ^4 -Androstendion-3,17. Der Autor nimmt an, daß die beiden letzteren Substanzen in der Leber schnell in Hydroxy- oder Oxoderivate umgewandelt werden. Bei der Niere überwogen dagegen die unpolareren Metabolite, wie z.B. Testosteron, 3α -OH- 5β -Androstanon-17, Androsteron und Δ^4 -Androstendion(3,17).

HELLMAN et al. (1971) konnten weitere in der Niere vorhandene Enzyme entdecken, die am Metabolismus der Steroide beteiligt sind: Nach i.v. Injektion von 4 - ^{14}C -Cortisol-11- ^3H wurden Blut- und Urinproben auf Cortisol, Cortison und radioaktiv markiertes H_2O untersucht. Es zeigte sich, daß mindestens 50% des injizierten Hormons einer Oxidation an C_{11} unterlagen. Die entsprechend hohe Aktivität tauchte als ^3H - H_2O auf. Von dieser Umwandlungsrate wurden 10% in der Niere durch die 11α -OH-Steroid-Dehydrogenase oxidiert. Da auch Cortisolmoleküle ohne ^3H -Markierung sondern nur mit ^{14}C nachgewiesen wurden, muß die Rückreaktion der oben genannten Oxidation, nämlich eine Reduktion in C_{11} erfolgt sein.

Die Differenz zwischen ^{14}C -Cortisol und ^3H -Cortisol von 1/3 führte zu der Annahme, daß die $11\beta\text{-OH}$ -Steroid-Dehydrogenase entscheidend an der biologischen Aktivität des Cortisols beteiligt ist.

Über den Metabolismus des DHEA ist bekannt, daß es im menschlichen Organismus fast völlig als Sulfokonjugat vorliegt. Da es als Enzymregulator (Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase in Erythrozyten) fungiert, kann es sich nicht um das in dieser Beziehung inaktive DHEA-Sulfat handeln, sondern es wird die Struktur eines Steroid-esters von Diglycerid-Schwefelsäure angenommen (OERTEL, 1961). Im Harn konnten bei Gesunden keine Steroidsulfatide festgestellt werden, sondern nur Sulfate, Glucuronide und freie Steroide. In der Arbeit von HOFFMANN et al. (1974) sollte unter anderem geklärt werden, ob in der Niere eine Hydrolyse der lipophilen Steroidsulfatide zu wasserlöslichen -sulfaten stattfindet. Zu diesem Zweck wurde eine in-vivo Perfusion einer menschlichen Niere mit synthetischem $7\alpha\text{-}^3\text{H}$ -DHEA-Sulfatid bei einer 46jährigen Patientin vorgenommen. Bereits nach 30 Sekunden waren Aktivitäten im Nierenvenenblut festzustellen. Nach 10 Minuten konnten 42% der verabreichten ^3H -Aktivität nachgewiesen werden.

Den größten Anteil machten die freien Steroide aus. Mengenmäßig an 2. Stelle standen die Steroidsulfatide gefolgt von Glucuroniden und Sulfaten. Die größte Metabolitkonzentration im Plasma entfiel auf Androstendion.

Androsteron und Ätiocholanolon wurden in kleineren Mengen nachgewiesen. Im Harn nahmen zunächst auch die freien Steroide den größten Raum ein, womit die hohe Hydrolyserate des Steroidsulfatids zu freien Steroiden und Sulfatidsäure veranschaulicht wird. Nach 5 Minuten wurde der Steroidsulfat-Gehalt größer, was ebenfalls auf die Hydrolyse von Steroidsulfatid über eine Abspaltung des Diglycerids zu Steroidsulfat zurückgeführt werden kann. Gleichzeitig stiegen auch die Glucuronid-Konzentrationen an. Die Hauptsteroiden im Urin waren Androstendiol, Androsteron und Ätiocholanolon. Eine Beteiligung extrarenaler Gewebe an der Entstehung der genannten Produkte kann nicht ausgeschlossen werden, da Proben im allgemeinen Kreislaufsystem hohe Aktivitäten ergaben.

Den Anteil, den die fetale Niere am Metabolismus der neutralen Steroide hat, untersuchten HUHTANIEMI et al. (1972): Insbesondere sollte der Einfluß der fetalen Niere auf die Zusammensetzung der Amnionflüssigkeit beleuchtet werden. Die verwandten Nieren stammten aus 10 - 14 Wochen alten menschlichen Feten. Freie Steroide wurden nicht entdeckt. An Monosulfaten traten auf: DHEA, 16 α -OH-DHEA, Pregnenolon, 5-Androsteron-3 β ,17 β (α)-diol, 16 β -OH-DHEA, 3 β ,17 β -OH-5-Androsten-16-on, 5-Pregnen-3 β ,20 α -diol, 16 α -OH-Pregnenolon, 17 α -OH-Pregnenolon, von denen die drei ersten quantitativ überwogen. Als Disulfate kamen vor: 5-Androsten-3 β ,17 α -diol, 5-Androsten-3 β ,17 β -diol, und 5-Pregnen-3 β ,20 α -diol, wobei das erste Produkt am

häufigsten ist.

Daraufhin wurden DHEA, Pregnenolon und ihre Sulfokonjugate zusammen mit Schnitten oder Homogenaten von Nierengewebe inkubiert. So konnten 16 α -Hydroxylase, 17 β -Reduktase, 20 α -Reduktase und Sulfokinase als Enzyme nachgewiesen werden. Bei der Metabolisierung der Sulfate wurden als Zwischenstufen keine freien Steroide festgestellt, so daß ein "direkter" Übergang ohne Auflösung der Esterbindung angenommen werden kann.

Die Ergebnisse zeigen, daß die fetale Niere in der frühen und mittleren Schwangerschaft am Metabolismus der neutralen Steroide beteiligt ist. Jedoch können die großen Unterschiede der Zusammensetzung in bezug auf die Steroidsulfate zwischen fetalem Blut und Amnionflüssigkeit nicht allein durch die Tätigkeit der Niere zu erklären sein.

Um die Androgen-Hormonrezeptoren zu studieren, wurden in-vivo und in-vitro Versuche unternommen. Die Mäuseniere besitzt im Gegensatz zur Prostata eine nur geringe 5 α -Reduktase-Aktivität, was dazu führt, daß hier sehr wenig Testosteron in DHT übergeht (BARDIN et al., 1973). Nach früheren Ergebnissen von BULLOCK & BARDIN (1971) findet nach i.v. Injektion radioaktiven Testosterons dieses Hormon sich in höherer Konzentration als DHT in den Kernen der Nierenzellen. Da kaum eine Umwandlung in DHT stattfindet, wird Testosteron selbst in den Kern transportiert. So scheint dieses Hormon das wichtigste Androgen in der Niere zu sein.

BULLOCK et al. (1974) konnten eine Bindung des Testosterons an ein 7.9S Makromolekül des Cytoplasmas und ein 3.6S des Kerns feststellen. Dieser "Rezeptor" wurde dann in vitro weiter charakterisiert. Man fand, daß er $5,6 \times 10^{-14}$ Mol Testosteron pro ml Cytosol Protein binden konnte.

Östradiol wurde ebenfalls von einem 19S Protein gebunden und konnte die ^3H -Testosteron-Bindung genau wie Testosteron, DHT, Androstendion und Progesteron kompetitiv hemmen.

Außer Testosteron selbst wurden alle diese Steroide schnell metabolisiert, so daß nur für Testosteron die genaue Rezeptoraffinität bestimmt werden konnte. Aus all diesen Ergebnissen schließen die Verfasser, daß in Nieren von weiblichen und männlichen Mäusen Rezeptoren für Testosteron existieren. Bei Androgen-unempfindlichen (tfm/y) Mäusen konnten solche Rezeptoren nicht festgestellt werden.

DHT reagierte mit weit geringerer Affinität mit den Rezeptoren als Testosteron. In der Prostata ist es gerade umgekehrt (LIAO, 1969,)

Die Aufgabe solcher Rezeptoren scheint allgemein darin zu liegen, die Steroide zum Nucleus, ihrem eigentlichen Wirkort, zu bringen. Wie aus Untersuchungen von JENSEN (1971) und von WILLIAMS-ASHMAN (1971) hervorgeht, sind diese Rezeptoren als saure Proteine durch hohe Affinität und kleine Kapazität für ihre Steroide gekennzeichnet.

Sie sind gewebs- und substratspezifisch. Ihre Sedimentationskonstante beträgt 7 - 8S oder 3 - 4S. BAULIEU (1971) stellte fest, daß das Cytosol der Niere die gleiche Anzahl von Androgen-bindenden Stellen pro mg Protein hat wie die Prostata. Dieser Befund ist umso erstaunlicher, als nur das proximale Konvolut und die Bowman'sche Kapsel nach Ergebnissen von DOFUKU et al. (1971) für die Androgen-induzierte Reaktion in Frage kommen. In Organen, in denen Testosteron in Kernen konzentriert wird, wie z.B. in der Niere, drückt sich diese Reaktion in einem Anstieg der RNA und der Proteine ohne hohe DNA-Synthese aus (KOCHAKIAN, 1969, BURESOVA, 1971).

C) Eigene Untersuchungen

1) Durchführung des Experimentes

Das Experiment wurde an der frisch entnommenen Niere eines 23jährigen Patienten mit Ureterpapillom durchgeführt. Unmittelbar nach Exstirpation wurde die Niere an einen Perfusator Marke GAMBRO angeschlossen. Der Perfusionsdruck betrug 120/80 mmHg. Ein Volumen von 137Cml wurde in 220 Minuten bei einer Temperatur von 35-37°C und einem pH-Wert von 7,35 kontinuierlich durch das Organ geleitet. Das Perfusat bestand aus wässriger

Lösung von 10% Rheomakrodex + 20% Sorbit und Elektrolyten in physiologischer Zusammensetzung. Als Substrat enthielt es 100 μC 7α - ^3H -Testosteron. Das markierte Hormon wurde von der Firma New England Nuclear in Frankfurt/Main bezogen. Der Reinheitsgrad war nach papierchromatographischer Überprüfung größer als 99%.

Die spezifische Aktivität betrug 10 - 15C/mMol.

Bei der Perfusion erfolgte eine automatische Oxygenierung. Die Versuchsdauer betrug 220 Minuten.

In gewissen Zeitabständen (siehe Tab.I, Seite 36) entnahm man Aliquote der Perfusionsflüssigkeit und analysierte diese sowie das in Mark und Rinde getrennte Nierengewebe auf freie und konjugierte Steroide.

2) Chemische Aufarbeitung des Materials

a) Perfusat

Die freien Steroide konnten erschöpfend mit 3 x 2 Vol. Diisopropyläther extrahiert werden. Nach der Extraktion mit Diisopropyläther wurde ein geeignetes Aliquot des Gesamtextraktes der quantitativen Bestimmung der Radioaktivität im Liquid-Szintillationszähler zugeführt. Damit ließen sich Verluste während der weiteren Aufarbeitung kontrollieren. Der Gesamtextrakt wurde mit 0,2 Vol. H_2O gewaschen, über Na-Sulfat getrocknet und zur Trockne

eingedampft. Die in der alkalischen Fraktion enthaltenen freien phenolischen Steroide wurden nach Ansäuern mit 1N HCl auf pH 3 mit 4 x 2 Vol. Diisopropyläther extrahiert und ebenfalls zur Trockne eingedampft. Die weitere Charakterisierung der freien Steroide ist dem Kapitel 2c zu entnehmen.

Zur Gewinnung der gesamten Steroidkonjugate versetzte man das präextrahierte Plasma mit 15 Vol. Methanol - Chloroform 1:1(v/v) und hielt es 12 Stunden bei Raumtemperatur. Die Radioaktivität des Gesamtkonjugatextraktes wurde ebenfalls nach der ersten Extraktion in einem Aliquot quantitativ bestimmt.

Nach Abnutschen der ausgefällten Proteine wurde das Lösungsmittel bei 37°C im Rotationverdampfer bis auf 5 ml eingeengt und mit 2 x 15ml Methanol - Chloroform 1:1(v/v) aufgenommen. Der weiteren Reinigung von Lipoproteinen diente eine Lösungsmittelverteilung zwischen Ammoniumsulfat, pH = 3, sowie Äthylacetat. Die Konjugate wurden anschließend durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel G in den Systemen A B in Glucuronide und Sulfate aufgetrennt. Die Sulfate unterwarf man einer Solvolyse in Äther-Perchlorsäure bei 40°C über 15 Stunden, wie von TREIBER und CERTEL im einzelnen beschrieben. (1967). Die weitere Charakterisierung erfolgte nach der unten beschriebenen Methode.

b) Nierengewebe

Nach Auftrennung in Mark und Rinde wurden jeweils 10g der beiden Nierengewebe in NaCl 0,9% homogenisiert und mit 4 x 2,0 Vol. Diisopropyläther extrahiert. Der Diisopropyläther wurde am Rotationsverdampfer eingedampft und der Rückstand mit Aceton - Chloroform 1:1(v/v) 4 x 20,0 ml aufgenommen. Nach nochmaligem Eindampfen bis zur Trockne wurde die Gesamt-Radioaktivität eines geeigneten Aliquots im Liquid-Szintillationszähler bestimmt. So ließen sich Verluste bei der Aufarbeitung kontrollieren.

Zur Entfettung versetzte man den Trockenrückstand mit 10 ml n-Hexan und extrahierte mit 3 x 20,0 ml 85%igem Methanol. Nach Eindampfen des Methanols bis zur wässrigen Phase wurde das H₂O mit 30 ml Äthylacetat extrahiert, das anschließend ebenfalls zur Trockne eingedampft wurde. Die weitere Aufarbeitung und Charakterisierung erfolgte wie oben beschrieben.

c) Charakterisierung freier Steroide

Die Isolierung und Charakterisierung einzelner bzw. aus den Konjugatfraktionen freigesetzter Steroide geschah durch wiederholte Dünnschichtchromatographie. Die zur Dünnschichtchromatographie verwandten Systeme sind in

Tab. V (Seite 40) aufgeführt.

Die erste Auftrennung der freien radioaktiven Steroide erfolgte durch Dünnschichtchromatographie im System A. Nach Lokalisierung der radioaktiven Zonen auf den Dünnschichtplatten wurden die entsprechenden Strecken des Kieselgels von der Platte abgekratzt und die Steroide mit Methylenchlorid - Methanol 90:10 v/v extrahiert. Als Pilotensubstanzen liefen am Rande der Platte mit: Androstentriol, Androstendiol, Testosteron, Dihydrotestosteron und Androstendion. Geeignete Aliquote der einzelnen Fraktionen wurden der quantitativen Radioaktivitätsbestimmung im Liquid-Szintillations-Spektrometer (Fa. PACKARD, Modell TRICARB 3310) zugeführt. Der weiteren Charakterisierung diente die Derivatbildung mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin und die Rechromatographie im System A. Durch Zugabe von jeweils 20 µg unmarkierter Substanzen ließen sich die einzelnen Steroide bis zur konstanten spezifischen Aktivität reinigen.

d) Derivatbildung

Die Herstellung der 2,4-Dinitrophenylhydrazone von Keto-Steroiden geschah nach der Methode von TREIBER et al. (1967a und 1967b) mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 0,3%iger Trichloressigsäure in absolutem Benzol. Dazu wurde der Trockenrückstand der Dünnschicht-Eluate nach

Zugabe von jeweils 200 ug 2,4-Dinitrophenylhydrazin in 3 ml 0,3%iger Trichloressigsäure in absolutem Benzol aufgenommen. Die farbigen Derivate ließen sich als solche im System A chromatographieren und densitrometrisch quantitativ erfassen (Densitrometer der Fa. SCHOEFFEL, Trappenkamp über Bornhöved, Deutschland).

3) Ergebnisse und Diskussion

Die Verteilung der Radioaktivität (Ipm ^3H /ml Flüssigkeit bzw. g Gewebe) auf freie und konjugierte Steroide in verschiedenen Proben des Perfusates sowie im Gewebe von Mark und Rinde ist in Tabelle I (Seite 36) dargestellt. Tabelle II (Seite 37) zeigt die Verteilung der Radioaktivität (Ipm ^3H) auf verschiedene Metabolite jeweils eines Aliquots aus der Fraktion freier phenolischer Steroide.

In Tabelle III (Seite 38) wird die Verteilung der Radioaktivität auf verschiedene Metabolite jeweils eines Aliquots aus der Fraktion sulfokonjugierter Steroide demonstriert.

Aus Tabelle IV (Seite 39) geht die Verteilung der Radioaktivität (Ipm ^3H /ml Flüssigkeit bzw. g Gewebe) auf die Fraktion freier phenolischer Steroide jeweils eines Aliquots in verschiedenem Untersuchungsmaterial hervor.

Wie aus Tabelle I hervorgeht, ist die Konzentration freier Steroide in Perfusat I bis IV etwa gleichbleibend. Auch in Mark und Rinde sind nur geringe Unterschiede festzustellen, wobei die Rinde etwas mehr Aktivität enthält. Signifikante Unterschiede ergeben sich dagegen für die Menge der Sulfate, die in Perfusat III und IV höher ist als in den beiden ersten Proben. Im Nierengewebe selbst ist die Konzentration in der Rinde gegenüber derjenigen im Mark vergrößert. Der Anteil der Sulfatmenge an der Gesamtaktivität lag bei Perfusat I + II im Mittel bei 0,9%. In Perfusat III + IV betrug er gemittelt ungefähr 2%. Im Mark kamen 0,75% als Sulfate vor, während dieser Anteil in der Rinde auf 1,1% anstieg. Es fanden sich bei der Perfusion keine Glucuronide.

Offensichtlich fand in der Niere eine Veresterung der freien Steroide mit Schwefelsäure statt. Dadurch ist die Zunahme der Sulfokonjugate im Perfusat zu erklären. Daß dieses Organ zu einer solchen Reaktion mit Steroiden in der Lage ist, wurde bereits von MOSER (1966) gezeigt, als er in seinen Versuchen ^{35}S -Sulfat, das unter in-vivo Bedingungen injiziert wurde, in Cholesterol- ^{35}S -Sulfat überführen konnte. Auch in der Rattenniere wurden ähnliche Ergebnisse von RICE (1968) beschrieben.

Unter den gewählten Versuchsbedingungen konnte keine Glucuronidierung festgestellt werden im Gegensatz zur

Leber, wo eine sehr aktive Glucuronyl-Transferase isoliert wurde.

Demgegenüber konnten KIRDANI et al. (1972) zeigen, daß die menschliche Niere in der Lage ist, Östriol-6,7-³H zu einem hohen Prozentsatz in das entsprechende 16-Glucuronid zu überführen. HOBKIRK et al. (1974) konnten diese Ergebnisse bestätigen und bei ihrer in-vitro Inkubation mit Homogenaten menschlicher Nieren feststellen, daß eine Steroid-Glucuronidierung in diesem Organ möglich ist, indem sie die Umwandlung von 17 β -Östradiol-6,7-³H in das entsprechende 17-Glucuronid nachwiesen. Aus den Konzentrationsunterschieden zwischen Mark und Rinde würde folgen, daß die Sulfokonjugation vorwiegend im Cortex stattfindet. Für die Glucuronidierungsraten fanden HOBKIRK et al. (1974) eine 20x größere Konjugation von 17 β -Östradiol-6,7-³H in der Rinde als im Mark.

Möglicherweise werden die Sulfatester mit dem Urin an das Mark abgegeben. Nähere Angaben über die Art des konjugierenden Gewebes können anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht gemacht werden.

Wie Tabelle II zeigt, konnten insgesamt 4 aus Testosteron entstehende Metabolite isoliert und charakterisiert werden. Es handelt sich um: Androstendiol, Androstendion, Androstentriol und Dihydrotestosteron, wobei die beiden erstgenannten Produkte quantitativ überwiegen.

Während Testosteron in Perfusat I zu 19,8% metabolisiert wurde, stieg dieser Wert für Perfusat II auf 21,5% und erhöhte sich in Perfusat III auf 23,8%. In der letzten Perfusat-Probe betrug er 21,1%. Aus dem Anstieg des prozentualen Anteiles der Metabolisierung kann geschlossen werden, daß der Umfang der Testosteronumwandlung in den ersten 3 Stunden der Perfusionszeit zunahm. Das Perfusat, das nach der 3. Stunde gesammelt wurde, zeigte ungefähr den Mittelwert.

Für Mark und Rinde ergaben sich für die prozentualen Umwandlungsraten signifikante Unterschiede. Während im Mark nur 29% des Testosterons metabolisiert wurden, konnte in der Rinde ein Wert von 40,4% festgestellt werden. Nach diesen Ergebnissen scheint die Rinde der bevorzugte Ort der Metabolisierung von Testosteron zu sein. Wie in Tabelle I gezeigt wurde, ist auch die Sulfokonjugation hier am größten.

Im Perfusat ist Androstendion mit einem mittleren prozentualen Anteil von 10,6% an der Gesamtaktivität der quantitativ überwiegende Metabolit. Dieser Mittelwert gilt in etwa auch für die Niere, wobei mit 11,4% mehr auf das Mark als auf die Rinde (9,2%) entfallen. Demgegenüber steigt der Anteil des Androsten-diols von einem gemittelten Wert von 5,1% im Perfusat auf 18,8% in der Niere an. Einer Konzentration von 11,8% im Mark steht eine solche von 25,8% in der Rinde gegenüber. Aus diesem Ergebnis geht hervor, daß das Androsten-

diol vorwiegend im Cortex entsteht und möglicherweise, wie es für die Sulfokonjugate (s.o.) bereits in Betracht gezogen worden ist, mit dem Urin an das Mark abgegeben wird.

Anhand der niedrigen Werte der Tabelle III, welche die geringen Aktivitäten der sulfokonjugierten Steroide verdeutlichen, wird verständlich, daß die Charakterisierung der verschiedenen Metabolite dieser Fraktion nur tentativ möglich war. Androstetriol konnte hier nicht gefunden werden. Im Perfusat ließ sich zeigen, daß sowohl der Anteil für Androstendiol als auch derjenige des Testosterons in den verschiedenen Proben (I - IV) anstieg. Auch bei Dihydrotestosteron zeigte sich eine Erhöhung der Aktivität von Perfusat III und IV gegenüber Perfusat I und II. Während für die genannten Metabolite die Umwandlungsraten im Verlauf der Perfusion ansteigen, läßt sich eine solche Gesetzmäßigkeit für das Androstendion nicht nachweisen.

Im Nierengewebe selbst ergab sich für die Rinde eine höhere Absolutkonzentration aller Metabolite als für das Mark. Damit wird das Ergebnis der Tabelle I bestätigt, wo auch in der Rinde mehr Sulfokonjugate festgestellt wurden. Dieses Resultat ist ein weiterer Hinweis darauf, daß die Konjugation des Testosterons mit Sulfat vorwiegend in diesem Teil der Niere stattfindet.

Der Anteil des Androstendiols übertrifft in der Rinde denjenigen des Testosterons. Im Mark haben beide den

gleichen Wert.

Wie aus Tabelle IV ersichtlich wird, ließen sich signifikante Mengen an Radioaktivität auch in der Fraktion phenolischer Steroide nachweisen. Hier überwog die Konzentration im Mark gegenüber der Rinde. Auf eine weitere Charakterisierung wurde verzichtet.

Aus den hier vorgelegten Ergebnissen geht hervor, daß die Niere in der Lage ist, Testosteron zu metabolisieren und zu konjugieren. Trotz der weitgehend im physiologischen Bereich simulierten Versuchsbedingungen (Perfusionsdruck: 120/80, Temperatur: 35-37°C, pH: 7,2, automatische Oxygenierung) sind nur bedingt Rückschlüsse auf die tatsächlich in vivo ablaufenden Umsatzraten möglich, da das physiologisch-biochemische Milieu des menschlichen Blutes sich in der Perfusionsflüssigkeit nicht erreichen ließ (Redox-Verhältnisse, Puffer, Fehlen zellulärer Bestandteile).

Ein Vorteil des hier verwandten Perfusionssystems liegt jedoch darin, daß die Metabolisierung in der Niere hier isoliert betrachtet werden kann: In-vivo Versuche haben immer wieder gezeigt, daß ein beträchtlicher Anteil der injizierten Hormone nicht in dem zu untersuchenden Organ, sondern in peripheren Organen umgewandelt wurden (HOBKIRK & NILSEN, 1971, HOFFMANN et al., 1974). Trotz der Mängel im Vergleich mit den physiologischen Verhältnissen sind die gewonnenen Ergebnisse wertvoll, da sie zeigen, daß Langzeitperfusionen in der gezeigten

Form möglich sind, denn selbst nach einer Perfusionsdauer von 3 Stunden konnten immer noch zunehmende Konjugatkonzentrationen festgestellt werden.

D) Zusammenfassung

Unter standardisierten Bedingungen wurde die Niere eines 23jährigen Patienten in vitro über einen Zeitraum von 220 Minuten perfundiert. Dem Perfusionsmedium gab man 100 uC 7α - 3 H-Testosteron zu. Dabei konnten als Testosteronmetabolite Androstendiol, Androstendion, Androstentriol und Dihydrotestosteron gefunden werden. Die Metabolisierungsrate im Perfusat lag durchschnittlich bei 21,5%. Im Nierenmark wurden 29% und in der Rinde 40,4% umgewandelt, so daß letztere als bevorzugter Ort der Testosteron-Metabolisierung in der Niere erschien. Gleichzeitig fand eine Veresterung freier Steroide mit Schwefelsäure statt. Auch hier lag die Konjugationsrate mit 1,1% in der Rinde höher als im Mark (0,75%). Der Mittelwert für das Perfusat betrug 1%. Die Metabolisierungsprozesse am eingesetzten Substrat fanden während der gesamten Perfusionsdauer statt. Die Umwandlungsprodukte fanden sich in höchster Konzentration in den zuletzt entnommenen Perfusatproben. Rückschlüsse auf die physiologische Rolle der Niere im Gesamtmetabolismus der Steroide sind aus den vorliegenden in vitro gewonnenen Ergebnissen nur bedingt möglich.

Tab. I: Verteilung der Radioaktivität (Ipm $^3\text{H}/\text{ml}$ Flüssigkeit bzw. g Gewebe) auf freie und konjugierte Steroide in verschiedenen Proben des Perfusates sowie im Gewebe von Mark und Rinde.

Material (Dauer der Perfusion)	Freie Steroide	Sulfate	Glucuron.
Perfusat I (0-60')	1325	13	-
Perfusat II (60-120')	1383	12	-
Perfusat III (120-180')	1115	20	-
Perfusat IV (180'-220')	1188	25	-
Mark	12322	91	-
Rinde	13759	159	-

Tab. II: Verteilung der Radioaktivität (Ipm ^3H) auf verschiedene Metabolite jeweils eines Aliquots aus der Fraktion freier Steroide.

Material		ATRL	ADL	TESTO	ADN	DHT
Perfusat	I	1755	3450	48245	4315	2400
Perfusat	II	2150	2325	43120	5185	2156
Perfusat	III	1425	3195	43270	6755	2164
Perfusat	IV	975	2630	42115	5570	2106
Mark		3305	16330	98145	15840	9815
Rinde		3640	39195	90455	13905	9046

Tab. III: Verteilung der Radioaktivität (Ipm ^3H) auf verschiedene Metabolite jeweils eines Aliquots aus der Fraktion sulfokonjugierter Steroide.

Material		ATRL	ADL	TESTO	ADN	DHT
Perfusat	I	-	15	27	20	8
Perfusat	II	-	21	27	13	7
Perfusat	III	-	25	35	28	17
Perfusat	IV	-	29	41	12	22
Mark		-	30	30	10	20
Rinde		-	56	40	20	27

Tab. IV: Verteilung der Radioaktivität (Ipm $^3\text{H}/\text{ml}$ Flüssigkeit bzw. g Gewebe) auf die Fraktion freier phenolischer Steroide jeweils eines Aliquots in verschiedenem Untersuchungsmaterial.

Material	phenolische Steroide
Perfusat I-IV	778
Mark	1820
Rinde	1175

Tab. V: Die zur Auftrennung verwandten Chromatographie-
Systeme.

System	Träger	Laufmittel
A DSC	Kieselgel G	Chloroform/Methanol/ NH_4 20:5:0,5 (v/v)
B DSC	Kieselgel G	Chloroform/Methanol/ NH_4 10:10:0,5 (v/v)
C DSC	Kieselgel G	Chloroform/Dioxan 94:6 (v/v)
D DSC	Kieselgel G	Benzol/Äthanol 4:2 (v/v)

Literaturverzeichnis

1. Bardin, C.W., L.P. Bullock, R.J. Sherins, I. Mowszowicz, W.A. Blackburn (1973)
Androgen Metabolism and mechanism of action in male pseudohermaphroditism: a study of testicular feminisation
Rec. Progr. Horm. Res. 29, 65-109
2. Baulieu, E.E., R. Emiliozzi (1960)
Ester sulfates of steroid hormones. Isolation and characterisation of the ester sulfate of 5 β -androstane-3 β -ol-17-one in the urine after administration of 5 β -androstane-3 β -ol-17-one (3 β -etiocholanolon) to a child.
C. R. Acad. Sci. (Paris): 251, 3106-8
3. Baulieu, E.E., P. Mauvais-Jarvis (1964)
Studies on testosterone metabolism. II. Metabolism of testosterone-4-¹⁴C and androst-4-ene-3,17-dione-1,2-³H.
J. biol. Chem.: 239, 1578
4. Baulieu, E.E., C. Corpechot, F. Dray, R. Emiliozzi, P. Robel (1965)
An adrenal secreted "androgen": Dehydroisoandrosterone-sulfate. Its metabolism and a tentative generalisation on the metabolism of other steroid conjugates in man.
Rec. Progr. Horm. Res. 21, 411-500

5. Baulieu, E.E., A. Alberga, I. Jung, M. Lebeau, C. Mercier-Bodard, E. Milgrom, J. Raynaud, C. Raynaud-Jammet, H. Rochefort, H. Truong, P. Robel (1971)
Metabolism and protein binding of sex steroids in target organs: an approach to the mechanism of hormone action.
Rec. Progr. Horm. Res. 27, 351-419
6. Baulieu, E.E. (1972)
A survey of the mode of action of steroid hormones.
Proc IVth Internat. Congr. Endocr., Washington
7. Berliner, D.L., W. Stevens, T.F. Dougherty (1962)
Influence of steroidal structure on glucuronoside formation by mouse liver and kidney.
Proc. Soc Exptl. Biol. Med. 110, 268-70
8. Bolté, E., S. Mancuso, G. Erikson, N. Wijkvist, E. Dicfaluzi (1964)
Studies on the aromatisation of neutral steroids in pregnant women. I. Aromatisation of C₁₉-steroids by placentas perfused in situ.
Acta endocr. (Kbh) 45, 535-59
9. Breuer, H. (1962)
Comparative studies on aromatic neutral steroids in man.
Acta Endocr. (Kbh) 40, 111-22

10. Bullock, L.P., C.W. Bardin, S. Ohno (1971)
The androgen insensitive mouse: absence of intra-nuclear androgen retention in the kidney.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 44, 1537

11. Bullock, L.P., C.W. Bardin (1974)
Androgen receptors in mouse kidney: A study of male, female and androgen-insensitive (tfm/y) mice.
Endocrinol. 94, 746

12. Buresova, M., E. Gutmann (1971)
Effect of testosterone on protein synthesis and contractility of levator ani muscle of the rat.
J. Endocr. 50, 643-51

13. Burger, H.G., J.R. Kent, A.E. Kellie (1964)
Determination of testosterone in human peripheral and adrenal venous plasma.
J. Clin. Endocr. 24, 432-41

14. Camacho, A.M., C.J. Migeon (1964)
Studies on the origin of testosterone in the urine of normal adult subjects and patients with various endocrine disorders.
J. Clin. Invest. 43, 1033-9

15. Cohn, G.L., M. Hume (1960)
The in vivo glucuronide conjugation of radioactive
etiocholanolone and androsterone by the dog kidney.
J. Clin. Invest. 39, 1581-9

16. Dillard, M., P.K. Bondy (1969)
Conjugation of androsterone by guinea-pig in vitro.
Biochem. 112, 407-13

17. Dofuku, R., U. Tettenborn, S. Chno (1971)
Testosterone - "regulon" in the mouse kidney.
Nature New Biol. 232, 5

18. Emerman, S., J. Dancis, M. Levitz, N. Wiquist,
E. Diczfalusy (1965)
Metabolism of estrone-6,7-³H-sulfate-³⁵S in the
perfused human fetus.
J. Clin. Endocr. 25, 639-48

19. Frasier, S.D., R. Horton (1966)
Androgens in the peripheral plasma of prepuberal
children and adults.
Steroids 8, 777-84

20. Hall, P.F., K.B. Eik-Nes (1964)
The effect of interstitiell cell-stimulating hormone
on the production of pregnenolone by rabbit testis
in the presence of an inhibitor of 17-alpha-hydroxylase.
Biochem. Biophys. Acta (Amst) 86, 604-9

21. Hagerman, N.G., D.D. Hagerman (1969)
The Hydrolysis of estrone sulfate by rat kidney
microsomal sulfatase.
Arch. Biochem. Biophys. 135, 410-15
22. Hellman, L., F. Nakada, B. Zumoff, D. Fukushima,
H.L. Bradlow, T.F. Gallagher (1971)
Renal capture and oxidation of cortisol in man.
J. Clin. Endocr. 33, 52
23. Hobkirk, R., M. Nilsen (1970)
Metabolism of estrone-3-glucosiduronate and 17 β -
estradiol-3-glucosiduronate in the human female.
Steroids 15, 649-67
24. Hobkirk, R., M. Nilsen (1971)
Metabolism of 17 β -estradiol to 17 β -estradiol-3-
glucosiduronate and 17 β -estradiol-17-glucosiduronate
by the normal human female.
J. Clin. Endocr. 32, 779-85
25. Hobkirk, R., R.N. Green, M. Nilsen, B.A. Jennings (1974a)
Formation of estrogen glucosiduronates by human
kidney homogenates.
Can. J. Biochem. 52, 9-14

26. Hobkirk, R., R.N. Green, M. Nilsen, B.A. Jennings (1974b)
Direct conversion of 17 β -estradiol-3-glucosiduronate
and 17 β -estradiol-3-sulfate to their 17-keto forms
by human kidney homogenates.
Can. J. Biochem. 52, 15-20
27. Hoffmann, G., F. Wendlberger, G.W. Oertel (1974)
Metabolismus von Steroidkonjugaten. XIII. In vivo
Perfusion der menschlichen Niere mit 7- α -³H-
Dehydroepiandrosteronsulfatid.
Endokrinologie, Bd 63, Heft 2, 279-87
28. Hoffmann, W., H. Breuer (1968)
Vorkommen von UDP-Glucuronyltransferasen in der
Magenschleimhaut des Menschen.
Z. Klin. Chem. 6, 85-88
29. Hollander, N., V.P. Hollander (1958)
The microdetermination of testosterone in human
spermatic vein blood.
J. Clin. Endocr. 18, 966
30. Horton, R., J. Shinsako, P.H. Forsham (1965)
Testosterone production and metabolic clearance
rates with volumes of distribution in normal adult
men and women.
Acta endocr. (Kbh) 48, 446

31. Horton, R., K. Mann (1966a)

Estimation of androstenedione and testosterone in plasma with ^{35}S -thiosemicarbazide.

Excerpta med (Amst) Intern. Congr. Ser. No 111, Abst 201

32. Horton, R., J.F. Tait (1966b)

Androstenedione production and interconversion rates measured in peripheral blood and studies on the possible site of its conversion to testosterone.

J. Clin. Invest. 45, 301-13

33. Huhtaniemi, I., R. Vihko (1972)

Steroid metabolism in kidney tissue. I. Endogenous neutral steroids in foetal kidneys and their formation.

Acta Endocr. 71, 530-8

34. Jensen, E.V., E.R. DeSombre, L. InMartini, V.H.T. James (1971)

Current topics in experimental endocrinology, vol.I.

Academic Press New York, p. 229

35. Kirdani, R.Y, D. Sampson, G.P. Murphy, A.A. Sandberg (1972)

Studies on phenolic steroids in human subjects. XVI.

Role of the kidney in the disposition of estriol.

J. Clin. Endocr. 34, 546

36. Knapstein, P., F. Wendlberger, L. Treiber, G.W.Oertel (1967)

Enterohepatischer Kreislauf von C_{19} Steroiden.IV.

Z. Physiol. Chem. 348, 401-4

37. Knapstein, P., F. Wendlberger, P. Menzel,
G.W. Oertel, J.C. Touchstone (1968)
Biosynthesis of steroids in human gonads. VI.
In vivo perfusion of the testis with 1-¹⁴C-
acetate and 7-³Hcholesterol.
Steroids 12, 191-204
38. Knapstein, P., W. Wortmann, C. Krämer (1972)
Metabolism and plasma half life of ¹⁴C-testosterone
plus ³H-testosterone-³⁵sulfate perfused through
human liver or injected intravenously.
Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. Bd. 353, 1447-53
39. Kochakian, C.D., (1969)
Intracellular regulation of nucleic acids of mouse
kidney by androgens.
Gen. Comp. Endocr. 13, 146-50
40. Kumari, L., J.W. Goldzieher (1966)
In vitro steroidogenesis in normal human ovarian tissue.
Acta Endocr. 52, 455-64
41. Liao, S., S. Fang (1969)
Antagonistic action of anti-androgens on formation of
a specific dihydrotestosterone-receptor protein
complex in rat ventral prostate.
Molec. Pharmacol. 5, 428-31

42. Menon, K.M.J., R.I. Dorfman, E. Forchielli (1965)
The obligatory nature of cholesterol in the biosynthesis of testosterone in rabbit testis slices.
Steroids 2, 165-75
43. Mosebach, K.O., W. Dirscher, K. Rath, G. Rieck (1966)
Initial metabolites of testosterone in cell fractions of rat liver and kidney.
J. Physiol. Chem. 344, 197-208
44. Moser, H.W., A.B. Moser, J.C. Orr (1966)
Preliminary observations on the occurrence of cholesterol sulfate in man.
Biochem. Biophys. Acta 116, 146
45. Nagatomi, K., Y. Osawa, R.Y. Kirdani, A.A. Sandberg (1973)
Studies on phenolic steroids in human subjects. XVII.
The kidney and fate of 15- α -Hydroxyestrogens.
J. Clin. Endocr. 37, 887
46. Certel, G.W. (1961)
Über Steroid-Konjugate im Plasma. I. Isolierung von Sulfat-, Phosphat- und Lipoid-haltigen 17-Ketosteroid-konjugaten aus menschlichem Blutplasma.
Biochem. Z. 334, 431-40

47. Oertel, G.W., (1961)

Über Steroid-Konjugate im Plasma. II. Synthese
von Sulfatidyl-Dehydroepiandrosteron.

Naturwiss. 48, 621

48. Resco, J.A., K.B. Eik-Nes (1966)

Diurnal testosterone levels in peripheral plasma
of human male subjects.

J. Clin Endocr. 26, 573-6

49. Rice, B.F., J. Hammerstein, K. Savard (1964)

Steroid hormone formation in the human ovary. II.

Action of gonadotropins in vitro in the corpus luteum.

J. Clin. Endocr. 24, 606-15

50. Rice, L.I., E.H. Rice, L. Spolter, W. Marx, J.S.O'Brien (1968)

Sulfation of cholesterol in rat kidney and liver.

Arch. Biochem. Biophys. 127, 37-42

51. Rivarola, M.A., C.J. Migeon (1966a)

Determination of testosterone and androst-4-ene-3,17-
dione concentration in human plasma.

Steroids 7, 103-17

52. Rivarola, M.A., J.M. Saez, W.J. Meyer, M.E. Jenkins, C.J. Migeon (1966b)

Metabolic clearance rate and blood production rate of
testosterone and Androst-4-ene-3,17-dione under basal
conditions, ACTH and HCG stimulation comparison with
urinary production rate of testosterone

J. Clin. Endocr. 26, 1208

53. Roy, A., W.R. Slaunwhite (1969)
Studies on phenolic steroids in human subjects. XII.
In vitro metabolism of estradiol-6,7-³H-3-glucosiduronate-¹⁴C and estrone-6,7-³H-glucosiduronate by human placental estradiol-17 β -dehydrogenase.
Steroids 14, 327-331
54. Sandberg, A.A., W.R. Slaunwhite (1956)
Metabolism of 4-¹⁴C-testosterone in human subjects. I.
Distribution in bile, blood, feces and urine.
J. Clin. Invest. 35, 1331-39
55. Savard, K., B.I. Dorfman, E. Potasse (1952)
Biogenesis of androgens in the human testis.
J. Clin. Endocr. 12, 935
56. Schoen, E.J., L.T. Samuels (1965)
Testicular androgen biosynthesis following corticotrophin and human chorionic gonadotrophin administration.
Acta Endocr. (Kbh) 50, 365-78
57. Sjoval, J., R. Vihko (1965)
Determination of Androsterone and Dehydroepiandrosterone Sulfates in Human Serum by Gas-Liquid Chromatography
Steroids 6, 597-604
58. Tamm, J., (1967)
Testosteronstoffwechsel beim Menschen
Dtsch. Med. Wschr. 92, 1983-7, 2037-41, 2080-6

59. Treiber, L., G.W. Oertel (1967a)
Determination of 17-ketosteroids with 2,4-DNPH. I.
Z. Klin. Chem. 5, 83-6
60. Treiber, L., G.W. Oertel (1967b)
Determination of 17-ketosteroids with 2,4-DNPH. II.
Z. Klin. Chem. 5, 102
61. Vermeulen, A., L. Verdenek, R. Daneels (1966)
Studies on Delta⁴-androstene-3,17-dione and
testosterone metabolism.
Excerpta med (Amst) Int. Congr. Ser. No 111, Abst 522
62. Wieland, R.G., C. deCourcy, R.P. Levy, A.P. Zala,
H. Hirschmann (1965)
C₁₉-C-2-steroids and some of their precursors in
blood from normal human adrenals.
J. Clin. Invest. 44, 159
63. Williams-Ashman, H.G., A.H. Reddi (1971)
Proteinphospholipase reactions in mammalian testis
stimulatory effects of adenosine-3'-5'-cyclic-mono-
phosphate on the phosphorylation of basic proteins.
Biochem. J. 122, 333-45
64. Wilson, H., M.B. Lipsett (1966)
Metabolism of epitestosterone in man
J. Clin. Endocr. 26, 902-14

65. Wilson, J.D., P. Siteri (1972)

The role of steroid hormones in sexual differentiation.
Proc. IVth Int. Congr. Endocr., Washington

66. Wotiz, H.H., B.S. Ziskind, H.M. Lemon (1960)

Studies in steroid metabolism. VIII. Steroidogenesis
in a heterologous tumor transplant.
Cancer Res. 20, 34-7

67. Wu, H.L., M. Mason (1965)

Hydrogenation of testosterone sulfate by the δ^4 -3-
ketosteroid reductase of rat liver microsomes.
Steroids 2, 45-51

68. Zuckerman, N.G., D.D. Hagermann (1969)

The hydrolysis of estrone sulfate by rat kidney
microsomal sulfatase.
Arch. Biochem. Biophys. 135, 410-15

Lebenslauf

Am 21. Juni 1950 wurde ich als Sohn von Florian Weis und dessen Ehefrau Helene, geb. Eller in Üdersdorf geboren. Mein Vater ist Kriegsversehrter (100%).

Vom Jahre 1957 bis 1962 besuchte ich die Volksschule in Üdersdorf. 1962 begann meine Schulzeit am Staatlichen Neusprachlichen Gymnasium in Daun, wo ich im Jahre 1970 das Abitur bestand.

Im Wintersemester 1970/71 nahm ich in Mainz das Studium der Medizin auf. Dort legte ich im Sommersemester 1971 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und im Wintersemester 1972/73 die ärztliche Vorprüfung ab.

Am 10. Juli 1974 heiratete ich Fräulein Anette Specht, die an der Fachhochschule des Landes Rheinland-Pfalz, Abt. Mainz 1, Innenarchitektur studiert.

Die ärztliche Prüfung werde ich voraussichtlich im Jahre 1976 ablegen.

Bei Herrn Professor Dr. P. Knapstein möchte ich mich
an dieser Stelle recht herzlich für die Überlassung
der Doktorarbeit und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Auch Herrn Professor Dr. G.W. Oertel danke ich für
seine Unterstützung.

